

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND



REC'D 14 APR 2000	
WIPO	PCT
09/890689	
EPO-München 51	
01. April 2000	

Bescheinigung

FP06/506

Die MultiGene Biotech GmbH in Würzburg/Deutschland hat eine Patentanmeldung unter der Bezeichnung

"cDNA-Sequenz eines Interaktors FANCIP1 des Fanconi-
Anämie-Proteins der Komplementationsgruppe A"

am 05. Februar 1999 beim Deutschen Patent- und Markenamt eingereicht.

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

Die Anmeldung hat im Deutschen Patent- und Markenamt vorläufig die Symbole
C 07 K 16-00, C 07 K 14-435, A 61 K 39-395, C 12 N 15-12, C 12 N 15-63,
A 61 K 48-00, A 61 K 38-17, C 12 Q 1-00, G 01 N 33-53 und C 12 Q 1-68 der
Internationalen Patentklassifikation erhalten.

München, den 03. Februar 2000

Deutsches Patent- und Markenamt

Der Präsident

Im Auftrag

Zitenzier

hen: 199 04 650.6

**PRIORITY
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

A 9161

06.90
11/98

(EDV-4)

cDNA-Sequenz eines Interaktors FANCIP1 des Fanconi-Anämie-Proteins der Komplementationsgruppe A

5

Beschreibung

Umfang der Erfindung

Die vorliegende Erfindung betrifft die cDNA eines Interaktors (FANCIP1) des Fanconi-Anämie Proteins der Komplementationsgruppe A (FANCA) sowie das davon codierte Protein. Weitere Gegenstände sind das entsprechende Gen, gegen das Protein gerichtete Antikörper, FANCIP1-transgene Organismen und Zellen sowie die Verwendung von FANCIP1 zum Effektor-Screening und die pharmazeutische Anwendung der Nukleinsäure, des Proteins und der Antikörper.

15

Hintergrund der Erfindung

Fanconi-Anämie (im folgenden als „FA“ bezeichnet) ist eine autosomal rezessiv erbliche Erkrankung, die sich klinisch mit Symptomen wie progressive Pancytopenie, angeborenen Mißbildungen und erhöhtem Risiko für Krebserkrankungen manifestiert (Glanz und Fraser, 1982). Mindestens 15% der FA-Patienten entwickeln myeloische Leukämien (Auerbach und Allen, 1991).

Cytogenetisch sind FA-Zellen durch eine Hypersensitivität gegenüber DNA-quervernetzenden Agenzien, wie z.B. Mitomycin C (MMC) und Diepoxybutan (DEB), charakterisiert, die sich in Chromosomenbrüchen und –aberrationen manifestiert (Auerbach, 1993). FA-Lymphozyten und –Fibroblasten weisen nach Behandlung mit MMC eine Verzögerung bzw. einen Arrest in der G2-Phase des Zellzyklus auf (Kubbies et al., 1985; Seyschab et al., 1995). Zudem ist bei FA-Zellen eine erhöhte Sauerstoffempfindlichkeit zu beobachten (Joenje et al. 1981; Schindler und Hoehn, 1988; Poot et al., 1996).

Anhand somatischer Zellfusionsstudien konnten für FA mindestens acht verschiedene Komplementationsgruppen (A bis H) unterschieden werden (Joenje et al., 1997). Bisher wurden die Gene für drei Komplementationsgruppen identifiziert: FANCC

(Strathdee et al., 1992; WO93/22435), FANCA (Lo Ten Foe et al., 1996; The Fanconi anaemia/Breast cancer consortium, 1996; WO98/14462) und FANCG (Saar et al., 1998; De Winter et al., 1998). Obwohl die molekulare Wirkungsweise der FA-Proteine immer noch unbekannt ist, deutet der zelluläre Phänotyp und das erhöhte Krebsrisiko bei einem Gendefekt auf eine Beteiligung bei der DNA-Reparatur, der Zellzyklus-Regulation und/oder der Hämatopoiese hin. Die Ähnlichkeit des klinischen und zellulären Phänotyps der verschiedenen Komplementationsgruppen und die Erkenntnis, daß das FANCA- und das FANCC-Protein unter FANCA-Phosphorylierung interagieren und als Komplex in den Zellkern transportiert werden (Kupfer et al., 1997a, Yamashita et al., 1998), lassen auf eine Protein-Kaskade oder ein funktionelles Zusammenwirken in einem Komplex schließen.

Entscheidende Fortschritte bei der Entschlüsselung der molekularen Ursachen der FA-Pathogenese können über die Identifikation der beteiligten Gene bzw. Proteine erzielt werden. Als FANCC-Interaktoren sind bislang die Cyclin-abhängige Kinase cdc2 (Kupfer et al., 1997b), das Chaperon GRP94 (Hoshino et al., 1998) und die NADPH:Cytochrom c-Reduktase (Kruyt et al., 1998) veröffentlicht, als potentiell Pathogenese-relevant wurden die Fanconi-Gene 1 und 2 eingestuft (Planitzer et al., 1998; WO98/16637 und WO98/45428).


Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung bestand darin, Interaktoren der Fanconi-Anämie-Proteine FANCA und FANCC zu finden. Auf Grundlage der FA-Pathogenese als Modellsystem für Mechanismen zur Aufrechterhaltung genetischer Stabilität war das Ziel, Bestandteile eines Proteinkomplexes bzw. einer Proteinkaskade zu identifizieren, die eine Rolle bei der DNA-Reparatur, der Zellzyklusregulation und/oder der Onkogenese spielen.

Zusammenfassung der Erfindung

Die vorliegende Erfindung beschreibt die Identifizierung einer cDNA, die für ein neues Protein codiert und mit FANCIP1 bezeichnet wurde. Die cDNA-Sequenz wurde unter Verwendung einer Interaction Trap-Version des Hefe-Two Hybrid-Systems (Fields und Song, 1989; Finley Jr. et al., 1996) gefunden, wobei das Protein der Komplementationsgruppe A (FANCA) als Köder diente. Das durch die FANCIP1-cDNA codierte Protein interagiert mit FANCA und kann somit Teil des Komplexes bzw. der


Signaltransduktionskaskade sein, die bei Defekt zur FA-Pathogenese führt. Die FANCIP1-cDNA und das davon codierte Protein, aber auch das entsprechende Gen und gegen das Protein gerichtete Antikörper sind daher als diagnostische, therapeutische oder präventive Mittel für Erkrankungen geeignet, die mit DNA-Reparatur-Defekten, Zellzyklus-Störungen, Cytopenien, Tumorgenese und/oder Tumorprogression assoziiert sind. Sie können weiterhin als Targets für Verfahren zum Effektor-Screening dienen, um neue Medikamente zur Behandlung der zuvor genannten Erkrankungen zu entwickeln.

10 Die vorliegende Erfindung betrifft eine Nukleinsäure, welche

- 
- a) die in Fig. 1 dargestellte Nukleotidsequenz oder einen Protein-codierenden Abschnitt davon,
 - b) eine der Sequenz aus a) im Rahmen der Degeneration des genetischen Codes entsprechende Nukleotidsequenz,
 - c) eine mit den Sequenzen aus a) und/oder b) unter stringenten Bedingungen hybridisierende Nukleotidsequenz oder
 - d) eine zu den Sequenzen aus a) und/oder b) komplementäre Sequenz umfaßt.

20

Die in Fig. 1 dargestellte Nukleotidsequenz enthält einen offenen Leserahmen, der einem Protein mit einer Länge von 308 Aminosäuren entspricht. Die Aminosäuresequenz dieses Proteins ist in Fig. 2 dargestellt.

- 
- 25 In der EST-Sequenzdatenbank am National Center for Biotechnology Information (NCBI) finden sich humane cDNA-Klone, die Teilbereiche der in Fig. 1 angegebenen Nukleotidsequenz enthalten. Folgende homologe humane ESTs wiesen einen statistischen Wahrscheinlichkeitswert von weniger als 0,5 auf: Zugangsnummern
- 30 AA165403, AA455594, AA314472, AA452340, N34087, AA182700, N41615, AA470049, AA463289, AA132459, W31487, R56355, H58271, H16122, W77956, AA193332, AA323923, AA370209, AA296758, W72757, AA093971, AA385544, AA165402, H42806, AA093977, AA370011, AI161152, R71215, AA386175, AA885343, T79297, R81567, AI082713, N29615, W04568, N40176, AA862385, AA953985, AA761084, AA416877, AA452117, AI143379, AA576229, W16851,

AA993074, AA569223, AA074872, AA463198, AA857004, H58663, H15819, AA206059, AA961068, T84789, AA507257, AA707515, AA132458, T79211, AA179262, N25699, T99574, T99363, AA713668, T91119, AA370208, R81568, W1505, AI038899, AA885960, R56263, AA825431, T99147, AA194115, HUML1488, C21420, AF049564, AI198414 und W31868. Unter diesen Zugangsnummern finden sich jedoch keine Angaben über einen vollständigen offenen Leserahmen oder über eine mögliche biologische Funktion.

Die vorliegende Erfindung umfaßt neben der in Fig. 1 gezeigten Nukleotidsequenz und einer dieser Sequenz im Rahmen der Degeneration des genetischen Codes entsprechenden Nukleotidsequenz auch noch eine Nukleotidsequenz, die mit einer der zuvor genannten Sequenzen hybridisiert. Der Begriff "Hybridisierung" gemäß vorliegender Erfindung wird wie bei Sambrook et al. (1989) verwendet.

Die erfindungsgemäße Nukleinsäure umfaßt einen Protein-codierenden Abschnitt der in Fig. 1 dargestellten Nukleotidsequenz oder eine Sequenz, die eine Homologie von mehr als 65%, vorzugsweise mehr als 80 % oder einen vorzugsweise mindestens 15 Nukleotide langen Abschnitt davon aufweist. Weiterhin kann die erfindungsgemäße Nukleotidsequenz auch eine RNA oder ein Nukleinsäureanalogon, z.B. eine Peptid-Nukleinsäure, umfassen.

Erfindungsgemäße Nukleinsäuren können aus Säugern nach bekannten Techniken unter Verwendung kurzer Abschnitte der in Fig. 1 gezeigten Nukleotidsequenz als Hybridisierungssonden und/oder Primer nach bekannten Methoden isoliert werden.

Weiterhin können erfindungsgemäße Nukleinsäuren auch durch chemische Synthese hergestellt werden, wobei anstelle der üblichen Nukleotidbausteine auch modifizierte Nukleotidbausteine (z.B. methylierte oder 2'-O-alkylierte Nukleotide oder Phosphorthioate) eingesetzt werden können. Nukleinsäuren, die teilweise oder vollständig aus modifizierten Nukleotidbausteinen bestehen, können beispielsweise als therapeutische Mittel, z.B. als Antisense-Nukleinsäuren oder als Ribozyme, eingesetzt werden.

Die vorliegende Erfindung betrifft weiterhin einen Vektor, der mindestens eine Kopie einer erfindungsgemäßen Nukleinsäure enthält. Dieser Vektor kann ein beliebiger

prokaryotischer oder eukaryotischer Vektor sein, auf dem sich die erfindungsgemäße DNA-Sequenz befindet und/oder der die Expression der erfindungsgemäßen Nukleinsäure in einer geeigneten Wirtszelle ermöglicht. Beispiele für prokaryotische Vektoren sind chromosomale Vektoren, wie Bakteriophagen, und extrachromosomale Vektoren, wie zirkuläre Plasmidvektoren. Beispiele für eukaryotische Vektoren sind Hefevektoren oder für höhere Zellen geeignete Vektoren, wie Plasmidvektoren oder virale Vektoren.

Die Erfindung betrifft auch einen Vektor, der vorzugsweise mindestens einen 15 Nukleotide langen Abschnitt der in Fig. 1 dargestellten Sequenz enthält. Vorzugsweise besitzt dieser Abschnitt eine Nukleotidsequenz, die aus dem Protein-codierenden Bereich der in Fig. 1 dargestellten Sequenz oder einem für die Expression des Proteins wesentlichen Bereich stammt. Diese Nukleinsäuren eignen sich besonders zur Herstellung von therapeutisch einsetzbaren Antisense-Nukleinsäuren.

15

Die vorliegende Erfindung betrifft weiter eine Zelle, die mit einer erfindungsgemäßen Nukleinsäure oder einem erfindungsgemäßen Vektor transformiert ist. Die Zelle kann sowohl eine eukaryotische als auch eine prokaryotische Zelle sein. Beispiele eukaryotischer Zellen sind insbesondere Säugerzellen. Ebenfalls Gegenstand sind FANCIP1-transgene Organismen, wie z.B. knock in- oder knock out-Tiermodelle. Tiermodelle, die das Produkt der Nukleinsäure stabil exprimieren, werden als knock-in-Tiermodelle, jene, deren entsprechendes natürliches Gen gezielt zerstört wurde, als knock-out-Tiermodelle bezeichnet.

25 Die vorliegende Erfindung umfaßt ein von einer wie oben angegebenen Nukleinsäure codiertes Protein. Dieses Protein weist die in Fig. 2 dargestellte Aminosäuresequenz oder eine Homologie von mehr als 60%, vorzugsweise mehr als 70% zu der in Fig. 2 dargestellten Aminosäuresequenz auf. Die Erfindung betrifft auch Varianten und Fragmente des in Fig. 2 dargestellten Proteins. Unter Varianten sind Sequenzen zu verstehen, die sich durch Substitution, Deletion und/oder Insertion einzelner Aminosäuren oder kurzer Aminosäureabschnitte von der in Fig. 2 dargestellten Aminosäuresequenz unterscheiden. Hierunter fallen sowohl natürlich vorkommende allelische Variationen oder Spleißvariationen des FANCIP1 als auch durch rekombinante DNA-Technologie, insbesondere durch in vitro-Mutagenese mit Hilfe von

chemisch synthetisierten Oligonukleotiden erzeugte Proteine, die hinsichtlich ihrer biologischen und/oder immunologischen Aktivität dem in Fig. 2 dargestellten Protein im wesentlichen entsprechen. Ebenfalls fallen unter diesen Begriff auch chemisch modifizierte Polypeptide. Hierzu gehören Polypeptide, die an den Termini und/oder an reaktiven Aminosäureseitengruppen durch Acylierung oder Amidierung modifiziert sind.

Die Erfindung betrifft ebenfalls Verfahren, die zur Herstellung des erfindungsgemäßen Proteins führen und sowohl die Kultivierung entsprechend transformierter Zellen als auch die Isolierung des erfindungsgemäßen Proteins umfassen.

10

Die Erfindung betrifft weiterhin die Verwendung des erfindungsgemäßen Polypeptids oder Fragmenten dieses Polypeptids als Immunogen zur Herstellung von Antikörpern.

Die Herstellung von Antikörpern kann dabei auf übliche Weise durch Immunisierung von Versuchstieren mit dem vollständigen Polypeptid oder Fragmenten davon und anschließende Gewinnung der resultierenden polyklonalen Antisera erfolgen. Nach bekannten Methoden können monoklonale Antikörper hergestellt werden. Die vorliegende Erfindung umfaßt somit auch Antikörper gegen FANCIP1 oder eine Variante davon.

Das von der erfindungsgemäßen Nukleinsäure codierte FANCIP1 kann als Target für eine gezielte Suche nach Effektoren eingesetzt werden. Substanzen, die auf das erfindungsgemäße Protein inhibitorisch oder aktivierend wirken, sind in der Lage, die durch das Protein gesteuerten Zellfunktionen selektiv zu beeinflussen. Daher können sie bei der Therapie entsprechender Krankheitsbilder, wie z.B. Cytopenien oder Tumoren, eingesetzt werden. Ein Gegenstand der Erfindung ist somit auch ein Verfahren zur Identifizierung von Effektoren des FANCIP1, wobei man Zellen, die das Protein exprimieren, mit verschiedenen potentiellen Effektorsubstanzen, in Kontakt bringt und die Zellen auf Veränderungen, z.B. zellaktivierende, zellinhibierende, zellproliferative und/oder zellgenetische Veränderungen, analysiert. Zudem können auf diese Weise Bindedomänen des FANCIP1 identifiziert werden. Gegenstand der Erfindung sind auf obengenannte Weise ermittelte pharmazeutisch wirksame Effektor-Substanzen.

Die vorliegende Erfindung betrifft auch eine pharmazeutische Zusammensetzung, die als aktive Komponente Nukleinsäuren, Vektoren, Zellen, Polypeptide, Antikörper und/oder Effektor-Substanzen wie zuvor angegeben enthält und weiterhin pharmazeutisch übliche Träger-, Hilfs- und/oder Zusatzstoffe sowie gegebenenfalls

5 weitere aktive Komponenten enthalten kann. Die pharmazeutische Zusammensetzung kann insbesondere zur Diagnostik, Therapie oder Prävention von Erkrankungen eingesetzt werden, die mit DNA-Reparatur-Defekten, Zellzyklus-Störungen, Cytopenien, Tumorgenese und/oder Tumorprogression assoziiert sind. Dies gilt auch für die Diagnostik einer Prädisposition für solche Erkrankungen bei Individuen, 10 insbesondere bei der Diagnostik eines Risikos für Cytopenien und/oder Tumorerkrankungen. Weiterhin wird eine gezielte Diagnostik von Krankheiten ermöglicht, die mit Veränderungen der Aktivität des FANCIP1 direkt oder indirekt verbunden sind. Diese Untersuchungen können mit Hilfe spezifischer Nukleinsäuresonden zum Nachweis auf Nukleinsäureebene, z.B. auf Gen- oder 15 Transkriptebe-
ne, oder mit Hilfe von Antikörpern gegen FANCIP1 zum Nachweis auf Proteinebene durchgeführt werden.

Bei Krankheitsbildern, die auf einen Ausfall des FANCIP1 zurückzuführen sind, kann eine gentherapeutische Behandlung erfolgen, welche die Übertragung einer für das 20 FANCIP1 codierenden Nukleinsäure mittels Vektoren, z.B. viralen Vektoren, in das entsprechende Zielgewebe umfaßt. Andererseits kann bei Krankheitsbildern, die auf eine unkontrollierte Expression des FANCIP1 zurückzuführen sind, eine gentherapeutische Behandlung erfolgen, welche zu einer Blockierung dieser Expression führt.

25

Die vorliegende Erfindung betrifft auch ein Verfahren zur Diagnostik der oben genannten Erkrankungen, wobei man einen Patienten oder eine aus einem Patienten stammende Probe, z.B. eine Probe einer Körperflüssigkeit oder eines Gewebes, mit einer erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzung in Kontakt bringt und 30 die Nukleotidsequenz und/oder die Expression der erfindungsgemäßen Nukleinsäure qualitativ oder quantitativ bestimmt. Diese Bestimmungsmethoden können beispielsweise auf Nukleinsäureebene durch Verwendung von Nukleinsäure-Hybridisierungs-
sonden oder über Reverse Transkription/PCR bzw. auf Proteinebene durch Antikörper nach cyto- oder histochemischen Methoden erfolgen. Die

pharmazeutische Zusammensetzung kann als Marker für das Auftreten von Cytopenien, Tumoren oder anderer proliferationsassoziiierter Erkrankungen oder einer Prädisposition für die genannten pathophysiologischen Veränderungen verwendet werden.

5

Schließlich betrifft die vorliegende Erfindung auch ein Verfahren zur Therapie oder Prävention einer der zuvor genannten Erkrankungen, wobei man dem Patienten eine erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzung verabreicht, die die aktive Komponente in einer gegen die Erkrankung wirksamen Menge enthält. Spezifische

10

Beispiele für pharmazeutische Zusammensetzungen, welche für therapeutische Zwecke geeignet sind, sind beispielsweise bispezifische Antikörper und Antikörper-Toxine bzw. Antikörper-Enzymkonjugate. Weitere bevorzugte pharmazeutische Zusammensetzungen für therapeutische Zwecke sind Antisense-Nukleinsäuren, gentherapeutische Vektoren oder Effektor-Substanzen, z.B. in Form niedermolekularer

15

Aktivatoren oder Inhibitoren.

Detaillierte Beschreibung der Erfindung

Interaction Trap

20

Zur Klonierung von cDNAs, deren Genprodukte mit dem Fanconi-Anämie-Protein FANCA interagieren und damit eine Rolle bei der FA-Pathogenese spielen können, wurde eine Interaction Trap-Version des Hefe-Two Hybrid-Systems (Fields und Song, 1989; Finley Jr. et al., 1996) eingesetzt.

25

Für die Konstruktion des FANCA-Köderproteins wurde die komplette codierende Sequenz des FANCA-Proteins in den Vektor pEG202 über die EcoRI-Schnittstelle im Leserahmen mit der für die LexA-DNA-bindende Domäne codierenden Region kloniert. Für die Expression des Beuteproteins wurde der Vektor pJG4-5 verwendet, der die Konstruktion von Fusionsproteinen mit der B42-transaktivierenden Domäne erlaubt. Mit dem FANCA-Köderprotein wurde eine in diesen Vektor als Fusionsgenbank klonierte HeLa-cDNA-Bibliothek durchmustert.

30

Als Wirtsorganismus diente der Hefestamm EGY48. Der Nachweis einer positiven Interaktion erfolgte durch Transkriptionsaktivierung des LEU2-Gens, woraus Wachstum der Hefen auf Leucin-freiem Medium resultiert.

- 5 Vor Durchführung des Interaction Traps wurde durch Ausplattieren pEG202FANCA-transformierter EGY48-Hefen auf Glucose-Medium ohne Histidin und Leucin sichergestellt, daß keine intrinsische transaktivierende Eigenschaft des FANCA-Köder-Fusionskonstruktes vorliegt.
- 10 Mit pEG202FANCA und der B42-Fusionsgenbank cotransformierte EGY48 wurden auf Leucin-haltigem Medium auf Erhalt beider Vektoren vorselektiert und aufgenommen. Für die Suche nach interagierenden Hefeklonen wurden Aliquots auf Leucin-freiem Medium ausplattiert und 3 bis 5 Tage bei 30 °C inkubiert. Insgesamt wurden Aliquots entsprechend einer Menge von 1×10^6 Transfektanten durchmustert. Die Abhängigkeit
- 15 der Transkriptionsaktivierung positiver Klone von der Expression des Beuteproteins wurde auf Leucin-freiem Glucose-Medium überprüft. Die Isolierung der Interaktor-Plasmide erfolgte nach Aufzucht der Hefen in Glucose-Medium ohne Tryptophan, Elektroporation des Nukleinsäure-Isolats im E.coli-Stamm XL1blue (Stratagene) und Plasmidpräparation aus den Bakterienzellen. Zur Bestätigung der Interaktionen wurden
- 20 Retransformationen des isolierten Beute-Interaktors in Kombinationen mit unterschiedlichen Köderkonstrukten durchgeführt. In Kombination mit pEG202FANCA wurde die zuvor beobachtete Interaktion bestätigt. Außerdem wurden mögliche
- 25 Interaktionen mit dem LexA-Fusionspartner ausgeschlossen, indem einerseits mit dem pEG202-Leervektor co-retransformiert wurde und andererseits mit einem LexA-DNA-Ligase-Köderfusionskonstrukt als Negativkontrolle.

Sequenzanalyse der FANCIP1-cDNA

- Die Länge der Genbank-cDNAs der isolierten Interaktorklone wurde durch EcoRI/XhoI-Restriktionshydrolyse bestimmt. Die Ansequenzierung der cDNAs erfolgte durch eine
- 30 automatisierte Cycle Sequencing-Methode (Applied Biosystems) unter Verwendung des Nukleinsäureprimers Bco I (5'- ACC AGC CTC TTG CTG AGT GGA GAT G-3'). Die vollständige Sequenzierung des Vektors mit inseriertem FANCIP1-cDNA-Fragment erfolgte mit den Nukleinsäureprimern Bco I und Bco II (5'-GAC AAG CCG ACA ACC TTG ATT GGA G-3') durch die Firma Sequence Laboratories Göttingen.

Zur Ermittlung der 5'-Bereich-Teilsequenz der gefundenen Nukleotidsequenz wurde der 5'/3' RACE Kit (Boehringer-Roche) verwendet. Hierbei kamen die sequenzspezifischen Primer FANCIP1-SP1 (5'-GGG GGC AGG AAT ATG AGA GG-3') und FANCIP1-SP2 (5'-TTT AGG GGG AAG TGT ACC TG-3') zum Einsatz. Das erhaltene PCR-Produkt wurde elektrophoretisch gereinigt (JETquick Gel Extraction Kit, GENOMED) und unter Verwendung des T7 Sequenase Version 2.0 DNA Sequencing Kit (Amersham-Pharmacia) und des oben genannten Primers FANCIP1-SP2 direkt sequenziert. Die Zugehörigkeit des erhaltenen Nukleotidfragments zum Plasmid-inserierten Interaktor-Fragment wurde durch einen überlappenden Sequenzbereich von 38 Nukleotiden bestätigt. Die zusammengesetzte Nukleotidsequenz ergab einen 1553 Nukleotide langen cDNA-Bereich, der einen Teil der 5'-untranslatierten Region, den gesamten offenen Leserahmen von 924 Nukleotiden bzw. 308 Codons und nahezu den kompletten 3'-untranslatierten Bereich bis über das Polyadenylierungssignal (AATAAA) hinaus umfaßt.

Um ähnliche Nukleotidsequenzen in der Sequenzdatenbank des National Center of Biotechnology Information (NCBI) zu finden, wurde die cDNA-Sequenz von FANCIP1 unter Verwendung des Blast-Programms am NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/cgi-bin/BLAST/nph-newblast?Jform=1>) analysiert. Nur in der EST-Datenbank ergaben sich signifikante Homologien zu humanen Klonen, die allerdings weder einen vollständigen offenen Leserahmen noch Angaben zu einer möglichen biologischen Funktion enthielten.

Kurze Beschreibung der Abbildungen

Fig. 1 (SEQ ID NO. 1) eine Nukleotidsequenz, die den für FANCIP1 codierenden offenen Leserahmen enthält,

Fig. 2 (SEQ ID NO. 2) die Aminosäuresequenz eines offenen Leserahmens der in Fig. 1 gezeigten Nukleotidsequenz,

Fig. 3 (SEQ ID NOs. 3 und 4) die Nukleinsäureprimer, die zur Sequenzierung der Plasmid-inserierten FANCIP1-Nukleotidsequenz verwendet wurden,

Fig. 4 (SEQ ID NOs. 5 und 6) die Nukleinsäureprimer, die zur 5'-RACE-Analyse verwendet wurden.

5

Zitierte Literatur

Auerbach, A.D. und Allen, R. (1991). Leukemia and preleukemia in Fanconi anemia patients. *Cancer, Genet. Cytogenet.* 51, 1-12

10

Auerbach, A.D. (1993). Fanconi anemia diagnosis and the diepoxybutane (DEB) test. *Exp. Hematol.* 21, 731-733

De Winter, J.P., Waisfisz, Q., Rooimans, M.A., van Berkel, C.G.M., Bosnoyan-Collins, L., Alon, N., Carreau, M., Bender, O., Demuth, I., Schindler, D., Pronk, J.C., Arwert, F., Hoehn, H., Digweed, M., Buchwald, M. und Joenje, H. (1998). The Fanconi anemia group G gene is identical with the human XRCC9. *Nat. Genet.* 20, 281-283

15

The Fanconi anaemia/Breast cancer consortium (1996). Positional cloning of the Fanconi anaemia group A gene. *Nat. Genet.* 14, 324-328

20

Fields, S. und Song, O. (1989). A novel genetic system to detect protein-protein interactions. *Nature* 340, 245-246

25

Finley Jr., R.L. und Brent, R. (1996). Interaction trap cloning with yeast. In *DNA Cloning-Expression Systems* (Hrsg. D. Glover und B.D. Hanes), Oxford University Press, Oxford, England

30

Glanz, A. und Fraser, F. (1982). Spectrum of anomalies in Fanconi's anemia. *J. Med. Genet.* 19, 412-416

Hoshino, T., Wang, J., Devetten, M.P., Iwata, N., Kajigaya, S., Wise, R., Liu, J.M. und Youssoufian, H. (1998). Molecular chaperone GRP94 binds to the Fanconi anemia group C protein and regulates its intracellular expression. *Blood* 91, 4379-4386

Joenje, H., Arwert, F., Eriksson, A., De Koning, H. und Oostra, A. (1981). Oxygen dependence of chromosomal aberrations in Fanconi's anemia. *Nature* 290, 142-143

Joenje, H., Oostra, A.B., Wijker, M., di Summa, F.M., van Berkel, C.G.M., Rooimans, M.A., Ebell, W., van Weel, M., Pronk, J.C., Buchwald, M. und Arwert, F. (1997).

5 Evidence for at least eight Fanconi anemia genes. *Am. J. Hum. Genet.* 61, 940-944

Kruyt, F.A.E., Hoshino, T., Liu, J.M., Joseph, P., Jaiswal, A.K. und Youssoufian, H. (1998). Abnormal microsomal detoxification implicated in Fanconi anemia group C by interaction of the FAC protein with NADPH cytochrome P450 reductase. *Blood* 92,

10 3050-3056

Kubbies, M., Schindler, D., Hoehn, H. und Rabinovitch, P. (1985). Endogenous blockage and delay of the chromosome cycle despite normal recruitment and growth phase explain poor proliferation and frequent endomitosis in Fanconi anemia cells. *Am.*

15 *J. Human. Genet.* 37, 1022-1030

Kupfer, G.M., Näf, D., Suliman, A., Pulsipher, M. und D'Andrea, A.D. (1997a). The Fanconi anaemia proteins, FAA and FAC, interact to form a nuclear complex. *Nat. Genet.* 17, 487-490

20

Kupfer, G.M., Yamashita, T., Näf, D., Suliman, A., Asano, S. und D'Andrea, A.D. (1997b). The Fanconi anemia polypeptide, FAC, binds to the cyclin-dependent kinase, cdc2. *Blood* 90, 1047-1054

25 Lo Ten Foe, J.R., Rooimans, M.A., Bosnoyan-Collins, L., Alon, N., Wijker, M., Parker, L., Lightfoot, J., Carreau, M., Callen, D.F., Savoia, A., Cheng, N.C., van Berkel, C.G.M., Strunk, M.H.P., Gille, J.J.P., Pals, G., Kruyt, F.A.E., Pronk, J.C., Arwert, F., Buchwald, M. und Joenje, H. (1996). Expression cloning of a cDNA for the major Fanconi anaemia gene, FAA. *Nat. Genet.* 14, 320-323

30

Planitzer, S.A., Machl, A.W., Rueckels, M. und Kubbies, M. (1998). Identification of a novel c-DNA overexpressed in Fanconi's anemia fibroblasts partially homologous to a putative L-3-phosphoserine-phosphatase. *Gene* 210, 297-306

Sambrook, J., Fritsch, E.F. and Maniatis, T. (1989). Molecular cloning: A laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York

5 Seyschab, H., Friedl, R., Sun, Y., Schindler, D., Hoehn, H., Hentze S. und Schroeder-Kurth, T. (1995). Comparative evaluation of diepoxybutane sensitivity and cell cycle blockage in the diagnosis of Fanconi anemia. Blood 85, 2233-2237

10 Poot, M., Groß, O., Epe, B., Pflaum, M. und Hoehn, H. (1996). Cell cycle defect in connection with oxygen and iron sensitivity in Fanconi anemia lymphoblastoid cells. Exp. Cell Res. 222, 262-268

15 Saar, K., Schindler, D., Wegner, R.D., Reis, A., Wienker, T.F., Hoehn, H., Joenje, H., Sperling, K. und Digweed, M. (1998). Localisation of a new Fanconi anemia gene to chromosome 9p. Eur. J. Hum. Genet. 6, 501-508

Schindler, D. und Hoehn, H. (1988). Fanconi anemia mutation causes cellular susceptibility to ambient oxygen. Am. J. Hum. Genet. 43, 429-435

20 Stratthdee, C.A., Gavish, H., Shannon, W.R. und Buchwald, M. (1992). Cloning of cDNAs for Fanconi's anaemia by functional complementation. Nature 256, 763-767

25 Yamashita, T., Kupfer, G.M., Näf, D., Suliman, A., Joenje, H., Asano, S. und D'Andrea, A.D. (1998). The Fanconi anemia pathway requires FAA phosphorylation and FAA/FAC nuclear accumulation. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95, 13085-13090

SEQUENZPROTOKOLL

5 (1) ALLGEMEINE ANGABEN:

(i) ANMELDER:

- 10 (A) NAME: MultiGen Biotech GmbH
(B) STRASSE: Am Hubland
(C) ORT: Wuerzburg
(D) BUNDESLAND: -
(E) LAND: Deutschland
(F) POSTLEITZAHL: 97074
(G) TELEFON: 0931-7058-4340
15 (H) TELEFAX: 0931-7058-4355
(I) TELEX: -

(ii) BEZEICHNUNG DER ERFINDUNG: cDNA-Sequenz eines Interaktors FANCIPl des Fanconi-Anaemie-Proteins der Komplementationsgruppe A

20 (iii) ANZAHL DER SEQUENZEN: 6

(iv) COMPUTER-LESBARE FASSUNG:

- (A) DATENTRÄGER: Floppy disk
(B) COMPUTER: IBM PC compatible
(C) BETRIEBSSYSTEM: PC-DOS/MS-DOS
(D) SOFTWARE: PatentIn Release #1.0, Version #1.30 (EPA)

30 (2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 1:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 1553 Basenpaare
35 (B) ART: Nucleotid
(C) STRANGFORM: Einzelstrang
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Genom-DNA

(ix) MERKMAL:

- 40 (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
(B) LÄGE: 1..1553

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 1:

45 AAATGTCAGG ATTAACCTCC ATTTTCAGCTA ATCATGGGAG AGATTAAAGT
CTCTCCTGAT 60

50 TATAACTGGT TTAGAGGTAC AGTTCCCCTT AAAAAGATTA TTGTGGATGA
TGATGACAGT 120

AAGATATGGT CGCTCTATGA CGCGGGCCCC CGAAGTATCA GGTGTCCTCT
CATATTCCTG 180

55 CCCCTGTCA GTGGAAGTGC AGATGTCTTT TTCCGGCAGA TTTTGGCTCT
GACTGGATGG 240

GGTTACCGGG TTATCGCTTT GCAGTATCCA GTTTATTGGG ACCATCTCGA
GTTCTGTGAT 300

60 GGATTCAGAA AACTTTTAGA CCATTTACAA TTGGATAAAG TTCATCTTTT
TGGCGCTTCT 360

TTGGGAGGCT TTTTGGCCCA GAAATTTGCT GAATACACTC ACAAATCTCC

TAGAGTCCAT 420
 TCCCTAATCC TCTGCAATTC CTTCAAGTGAC ACCTCTATCT TCAACCAAAC
 5 TTGGACTGCA 480
 AACAGCTTTT GGCTGATGCC TGCATTTATG CTCAAAAAA TAGTTCTTGG
 AAATTTTCA 540
 10 TCTGGCCCCG TGGACCCTAT GATGGCTGAT GCCATTGATT TCATGGTAGA
 CAGGCTAGAA 600
 AGTTTGGGTC AGAGTGAAGT GGCTTCAAGA CTTACCTTGA ATTGTCAAAA
 TTCTTATGTG 660
 15 GAACCTCATA AAATTCGGGA CATACTGTA ACTATTATGG ATGTGTTTGA
 TCAGAGTGCG 720
 CTTTCAACTG AAGCTAAAGA AGAAATGTAC AAGCTGTATC CTAATGCCCCG
 20 AAGAGCTCAT 780
 CTGAAACCAG GAGGCAATTT CCCATACCTG TGCAGAAGTG CAGAGGTCAA
 TCTTTATGTA 840
 CAGATACATT TGCTGCAATT CCATGGAACC AAATACGCGG CCATTGACCC
 ATCAATGGTC 900
 AGTGCCGAGG AGCTTGAGGT GCAGAAAGGC AGCCTTGGCA TCAGCCAGGA
 GGAGCAGTAG 960
 30 TGTGTCTCTC GCTGTCAATG ATGAGTTGAC CCGGTGTGTT CTTGTATAGT
 CAGTGGCATC 1020
 AGCACCCGTC AGCCGGCCTT TTCCTTCAGG TTCGTCAGGC TCACCGGTTC
 35 TCACTGTGTC 1080
 TGGGAAGTAG GACTGATGGT CATCTTCATG ACAGGCGGCA TCTCCACTAA
 GCCTGTGTAA 1140
 CTGTTCCCTC TTTGGTTTTT TTAGCTTTTG AATTGAAGA AGTACTTTTG
 40 AAGACTCCCA 1200
 TTTTAAGAAC CGTGCAGATT TTGCTACCAA AAGTCTTCAC CACTGTGTTC
 TTAAGTGAAT 1260
 45 GTTAATTCT GAGGTTTGGG ACTTTGTGGT GGTTTTTTTC TTCTTTTCTT
 TTCCATTCTT 1320
 CTTTCTTCT TTTTATGTTG TTTGCTGTAA ATGCTGCACA TCCAGATTGC
 50 ATATCAGGAC 1380
 ATTGGTTATT TTATGCTTTC TTGGATATAA CCATGATCAG AGTGCCATGG
 CCACTACCCC 1440
 ACTGTTTGCT CTCCTGCAAA TCAACTGCTT TTAATTTACA CTAAACAAA
 55 TTGTTTTGAG 1500
 TGTTAGCTAC TGCCTTTCTA GATATTAGTC ATTTGGAATA AAAATTCAAT TTC
 1553
 60

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 2:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

5

- (A) LÄNGE: 308 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

10

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: Protein
- (B) LÄGE: 1..308

15

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 2:

Met Gly Glu Ile Lys Val Ser Pro Asp Tyr Asn Trp Phe Arg Gly Thr
1 5 10 15

20

Val Pro Leu Lys Lys Ile Ile Val Asp Asp Asp Asp Ser Lys Ile Trp
20 25 30

Ser Leu Tyr Asp Ala Gly Pro Arg Ser Ile Arg Cys Pro Leu Ile Phe
35 40 45

Leu Pro Pro Val Ser Gly Thr Ala Asp Val Phe Phe Arg Gln Ile Leu
50 55 60

30

Ala Leu Thr Gly Trp Gly Tyr Arg Val Ile Ala Leu Gln Tyr Pro Val
65 70 75 80

Tyr Trp Asp His Leu Glu Phe Cys Asp Gly Phe Arg Lys Leu Leu Asp
85 90 95

35

His Leu Gln Leu Asp Lys Val His Leu Phe Gly Ala Ser Leu Gly Gly
100 105 110

Phe Leu Ala Gln Lys Phe Ala Glu Tyr Thr His Lys Ser Pro Arg Val
115 120 125

40

His Ser Leu Ile Leu Cys Asn Ser Phe Ser Asp Thr Ser Ile Phe Asn
130 135 140

45

Gln Thr Trp Thr Ala Asn Ser Phe Trp Leu Met Pro Ala Phe Met Leu
145 150 155 160

Lys Lys Ile Val Leu Gly Asn Phe Ser Ser Gly Pro Val Asp Pro Met
165 170 175

50

Met Ala Asp Ala Ile Asp Phe Met Val Asp Arg Leu Glu Ser Leu Gly
180 185 190

Gln Ser Glu Leu Ala Ser Arg Leu Thr Leu Asn Cys Gln Asn Ser Tyr
195 200 205

55

Val Glu Pro His Lys Ile Arg Asp Ile Pro Val Thr Ile Met Asp Val
210 215 220

60

Phe Asp Gln Ser Ala Leu Ser Thr Glu Ala Lys Glu Glu Met Tyr Lys
225 230 235 240

Leu Tyr Pro Asn Ala Arg Arg Ala His Leu Lys Pro Gly Gly Asn Phe
245 250 255

Pro Tyr Leu Cys Arg Ser Ala Glu Val Asn Leu Tyr Val Gln Ile His
 260 265 270

5 Leu Leu Gln Phe His Gly Thr Lys Tyr Ala Ala Ile Asp Pro Ser Met
 275 280 285

Val Ser Ala Glu Glu Leu Glu Val Gln Lys Gly Ser Leu Gly Ile Ser
 290 295 300

10 Gln Glu Glu Gln
 305

15

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 3:

20

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 (A) LÄNGE: 25 Basenpaare
 (B) ART: Nucleotid
 (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Genom-DNA

(ix) MERKMAL:

30

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
 (B) LAGE:1..25

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 3:

35

GTAGAGGTGA GTCGTTCTCC GACCA

25

40

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 4:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 (A) LÄNGE: 25 Basenpaare
 (B) ART: Nucleotid
 (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Genom-DNA

(ix) MERKMAL:

50

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
 (B) LAGE:1..25

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 4:

55

GAGGTTAGTT CCAACAGCCG AACAG

25

60

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 5:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 25 Basenpaare
- (B) ART: Nucleotid
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Genom-DNA

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..25

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 5:

GAGGTTAGTT CCAACAGCCG AACAG

25

20

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 6:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 20 Basenpaare
- (B) ART: Nucleotid
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Genom-DNA

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..20

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 6:

TTTAAGGGGA ACTGTACCTC

1. Nukleinsäure, die
 - 5 d) die in Fig. 1 dargestellte Nukleotidsequenz oder einen Protein-codierenden Abschnitt davon,
 - e) eine der Sequenz aus a) im Rahmen der Degeneration des genetischen Codes entsprechende Nukleotidsequenz,
 - 10 f) eine mit den Sequenzen aus a) und/oder b) unter stringenten Bedingungen hybridisierende Nukleotidsequenz oder
 - g) eine zu den Sequenzen aus a) und/oder b) komplementäre Sequenz umfaßt.
2. Nukleinsäure gemäß Anspruch 1, die einen vorzugsweise mindestens 30
 - 15 Nukleotide umfassenden Protein-codierenden Abschnitt der in Fig. 1 dargestellten Nukleotidsequenz umfaßt.
3. Nukleinsäure, die eine Homologie von mehr als 65% zu der Nukleotidsequenz gemäß Anspruch 1 oder einem Abschnitt davon aufweist.
- 20 4. Modifizierte Nukleinsäure oder Nukleinsäureanalogon, die eine Nukleotidsequenz gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3 umfaßt.
5. Rekombinanter Vektor, der mindestens eine Kopie einer Nukleinsäure gemäß
 - 25 einem der Ansprüche 1 bis 3 oder einen Abschnitt davon enthält.
6. Rekombinanter Vektor gemäß Anspruch 5, der die Expression der Nukleinsäure in einer geeigneten Wirtszelle ermöglicht.
- 30 7. Mit einer Nukleinsäure gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3 oder einem Vektor gemäß Anspruch 5 oder 6 transformierte Zelle, ein entsprechender transgener Organismus oder Tiermodelle, die das Produkt der Nukleinsäure gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3 stabil exprimieren (knock-in) oder deren entsprechendes natürliches Gen gezielt zerstört wurde (knock-out).

8. Polypeptid oder dessen Salz, das von einer Nukleinsäure gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3 codiert ist.
- 5 9. Polypeptid gemäß Anspruch 8, das
 - a) die in Fig. 2 dargestellte Aminosäuresequenz oder
 - b) eine Homologie von mehr als 60% zu der in Fig. 2 dargestellten Aminosäuresequenz aufweist, oder dessen Salz.
- 10 10. Fragment des Polypeptids gemäß Anspruch 8 oder 9 mit mindestens 100 Aminosäuren oder dessen Salz.
11. Modifiziertes Polypeptid, das eine Aminosäuresequenz gemäß Anspruch 8 oder 9 umfaßt.
- 15 12. Verfahren zur Herstellung des Polypeptids gemäß Anspruch 8 oder 9, das die Kultivierung von Zellen gemäß Anspruch 7 umfaßt sowie die Isolierung des Polypeptids gemäß Anspruch 8 oder 9.
- 20 13. Verwendung eines Polypeptids gemäß Anspruch 8 oder 9 oder von Fragmenten dieses Polypeptids als Immunogen zur Herstellung von Antikörpern.
14. Antikörper gegen ein Polypeptid gemäß Anspruch 8 oder 9.
- 25 15. Verfahren zur Identifizierung von Effektoren eines Proteins gemäß Anspruch 8 oder 9, mit dessen Hilfe verschiedene potentielle Effektorsubstanzen an Zellen getestet werden können, die das Protein exprimieren.
- 30 16. Substanz, die mit Hilfe des Verfahrens gemäß Anspruch 15 erhalten wurde und die mit mindestens einem Bereich des Proteins gemäß Anspruch 8 oder 9 reagiert und/oder dieses verändert.
17. Pharmazeutische Zusammensetzung, die als aktive Komponente
 - a) eine Nukleinsäure gemäß einem der Ansprüche 1 bis 4,
 - b) einen Vektor gemäß Anspruch 5 oder 6,

- c) eine Zelle gemäß Anspruch 7,
- d) ein Polypeptid gemäß Anspruch 8, 9, 10 oder 11,
- e) einen Antikörper gemäß Anspruch 14 umfaßt oder
- f) eine Substanz gemäß Anspruch 16

5 und pharmazeutisch übliche Träger-, Hilfs- und/oder Zusatzstoffe enthält.

18. Verwendung einer Zusammensetzung gemäß Anspruch 17 zur Diagnostik von Erkrankungen, die mit DNA-Reparatur-Defekten, Zellzyklus-Störungen, Cytopenien, Tumorgenese und/oder Tumorprogression assoziiert sind, oder
- 10 einer Prädisposition solcher Erkrankungen.

19. Verwendung einer Zusammensetzung gemäß Anspruch 17 zur Therapie oder Prävention von Erkrankungen, die mit DNA-Reparatur-Defekten, Zellzyklus-Störungen, Cytopenien, Tumorgenese und/oder Tumorprogression assoziiert sind.
- 15

20. Verwendung einer Zusammensetzung gemäß Anspruch 17 zur Gentherapie von Erkrankungen, die mit DNA-Reparatur-Defekten, Zellzyklus-Störungen, Cytopenien, Tumorgenese und/oder Tumorprogression assoziiert sind.
- 20

21. Verfahren zur Diagnostik von Erkrankungen, die mit DNA-Reparatur-Defekten, Zellzyklus-Störungen, Cytopenien, Tumorgenese und/oder Tumorprogression assoziiert sind oder einer Prädisposition für solche Erkrankungen, bei dem man einen Patienten oder eine aus dem Patienten stammende Probe mit einer Zusammensetzung gemäß Anspruch 17 in Kontakt bringt und die Nukleotidsequenz und/oder die Expression einer Nukleinsäure gemäß Anspruch 1 bestimmt.
- 25

22. Verfahren zur Therapie oder Prävention von Erkrankungen, die mit DNA-Reparatur-Defekten, Zellzyklus-Störungen, Cytopenien, Tumorgenese und/oder Tumorprogression assoziiert sind, bei dem man einem Patienten eine Zusammensetzung gemäß Anspruch 17 verabreicht, die die aktive Komponente in einer gegen die Erkrankung wirksamen Menge enthält.
- 30

cDNA-Sequenz eines Interaktors FANCIP1 des Fanconi-Anämie Proteins der Komplementationsgruppe A

5

Die vorliegende Erfindung betrifft die cDNA eines Interaktors FANCIP1 des Fanconi-Anämie Proteins der Komplementationsgruppe A (FAA) sowie das davon codierte Protein. Weitere Gegenstände sind das entsprechende Gen, gegen das Protein gerichtete Antikörper, FANCIP1-transgene Organismen und Zellen sowie die

10 Verwendung von FANCIP1 zum Effektor-Screening und die pharmazeutische Anwendung der Nukleinsäure, des Proteins und der Antikörper.

Fig. 1

AAATGTCAGGATTAACCTCCATTTTCAGCTAATCATGGGGAGAGATTAAAGTCTCTCCTGATTATA
ACTGGTTTAGAGGTACAGTTCCCCTTAAAAAGATTATTGTGGATGATGATGACAGTAAGATATG
5 GTCGCTCTATGACGCGGGCCCCCGAAGTATCAGGTGTCCTCTCATATTCCTGCCCCCTGTCAGT
GGAAGTGCAGATGTCTTTTTCCGGCAGATTTTGGCTCTGACTGGATGGGGTTACCGGGTTATCG
CTTTGCAGTATCCAGTTTATTGGGACCATCTCGAGTTCTGTGATGGATTTCAGAAAACCTTTTAGA
CCATTTACAATTGGATAAAGTTCATCTTTTTGGCGCTTCTTTGGGAGGCTTTTGGCCCAGAAA
TTTGCTGAATACTCACAATCTCCTAGAGTCCATTCCTTAATCCTCTGCAATTCCTTCAGTG
10 ACACCTCTATCTTCAACCAAACCTTGGACTGCAAACAGCTTTTGGCTGATGCCTGCATTTATGCT
CAAAAAAATAGTTCTTGAAATTTTTCATCTGGCCCCGGTGGACCCTATGATGGCTGATGCCATT
GATTTTCATGGTAGACAGGCTAGAAAGTTTGGGTCAGAGTGAAGTGGCTTCAAGACTTACCTTGA
ATTGTCAAAATTCTTATGTGGAACCTCATAAAATTCCGGGACATACCTGTAAGTATTATGGATGT
GTTTGATCAGAGTGCGCTTTCAACTGAAGCTAAAGAAGAAATGTACAAGCTGTATCCTAATGCC
15 CGAAGAGCTCATCTGAAACCAGGAGGCAATTTCCCATACCTGTGCAGAAGTGCAGAGGTCAATC
TTTATGTACAGATACATTTGCTGCAATTCATGGAACCAAATACGCGGCCATTGACCCATCAAT
GGTCAGTGCCGAGGAGCTTGAGGTGCAGAAAGGCAGCCTTGGCATCAGCCAGGAGGAGCAGTAG
TGTGTCTCTCGCTGTCAATGATGAGTTGACCCGGTGTGTTCTTGTATAGTCAGTGGCATCAGCA
CCCGTCAGCCGGCCTTTTCCTTCAGGTTCGTCAGGCTCACCGGTTCTCACTGTGTCTGGGAAGT
20 AGGACTGATGGTCATCTTCATGACAGGCGGCATCTCCACTAAGCCTGTGTAAGTGTTCCTCTT
TGGTTTTCTTAGCTTTTGAATTTGAAGAAGTACTTTTGAAGACTCCCATTTTAAGAACCGTGCA
GATTTTGCTACCAAAGTCTTCACCACTGTGTTCTTAAGTGAATGTTAATTTCTGAGGTTTGGG
ACTTTGTGGTGGTTTTTTTTCTTCTTTTCTTTTCCATTCTTCTTTCTTTCTTTTATGTTGTTTG
CTGTAAATGCTGCACATCCAGATTGCATATCAGGACATTGGTTATTTTATGCTTCTTGGATAT
25 AACCATGATCAGAGTGCCATGGCCACTACCCCACTGTTTGCTCTCCTGCAAATCAACTGCTTTT
AATTTACACTTAAACAAATTGTTTTGAGTGTTAGCTACTGCCTTTCTAGATATTAGTCATTTGG
AATAAAAATTCAATTTT